

---

---

## Efectos de la exposición ocupacional a plaguicidas sobre la calidad del semen en trabajadores de una comunidad agrícola del estado Mérida, Venezuela.

Leticia Miranda-Contreras<sup>1</sup>, Ibis Cruz<sup>2</sup>, Jesús A. Osuna<sup>2</sup>, Roald Gómez-Pérez<sup>3</sup>, Lisbeth Berrueta<sup>4</sup>, Siham Salmen<sup>4</sup>, Melisa Colmenares<sup>1</sup>, Silvio Barreto<sup>1</sup>, Alirio Balza<sup>1</sup>, Yasmin Morales<sup>1</sup>, Leisalba Zavala<sup>1</sup>, Emilitza Labarca<sup>1</sup>, Nelly García<sup>1</sup>, Beluardi Sanchez<sup>1</sup>, Carlos A. Contreras<sup>5</sup> y Henry Andrade<sup>6</sup>.

<sup>1</sup>Centro de Microscopía Electrónica “Dr. Ernesto Palacios Prü”, Universidad de Los Andes. Mérida, Venezuela.

<sup>2</sup>Laboratorio de Andrología, Facultad de Medicina, Universidad de Los Andes. Mérida, Venezuela.

<sup>3</sup>Departamento de Endocrinología, Hospital Universitario de Los Andes. Mérida, Venezuela.

<sup>4</sup>Instituto de Inmunología Clínica, Universidad de Los Andes. Mérida, Venezuela.

<sup>5</sup>Escuela de Ingeniería de Sistemas, Facultad de Ingeniería, Universidad de Los Andes. Mérida, Venezuela.

<sup>6</sup>Planificación y Desarrollo (PLANDES), Universidad de Los Andes. Mérida, Venezuela.

**Palabras clave:** exposición ocupacional, plaguicidas, calidad del semen, salud reproductiva.

**Resumen.** Numerosos estudios informan de los efectos adversos de plaguicidas sobre la salud reproductiva masculina. Los objetivos de este estudio fueron investigar si existe una relación entre exposición ocupacional a plaguicidas y la calidad del semen, y determinar si la exposición crónica a plaguicidas afecta diferencialmente la calidad del semen de trabajadores de diferentes edades. Se realizó un estudio comparativo entre 64 agricultores y 64 hombres control. Los trabajadores agrícolas fueron entrevistados para determinar su historia ocupacional, particularmente las actividades que pueden involucrar exposición a plaguicidas. Se evaluaron los parámetros seminales y se hizo un análisis comparativo entre el grupo expuesto y control, así como entre los grupos de edad 18-29, 30-37 y 38-60 años. Se encontraron alteraciones significativas de algunos parámetros del semen en el grupo expuesto, tales como: disminuciones en la concentración, motilidad lenta progresiva e integridad de membrana espermática; a su vez, incrementos en eosina Y positiva e índice de

fragmentación del DNA espermático. Los resultados obtenidos por grupo de edad mostraron diferencias significativas entre los grupos expuesto y control, para los parámetros de integridad de membrana, eosina Y positiva e índice de fragmentación del DNA espermático, siendo el grupo expuesto entre 18-29 años el que mostró mayores casos alterados de estos parámetros. Los resultados de este estudio comprueban que la exposición ocupacional a plaguicidas está asociada con alteraciones en la calidad espermática, creando riesgo para la capacidad reproductiva de los trabajadores del campo.

**Effects of occupational exposure to pesticides on semen quality of workers in an agricultural community of Merida state, Venezuela.**

*Invest Clin 2015; 56(2): 123 - 136*

**Key words:** occupational exposure, pesticides, semen quality, reproductive health.

**Abstract.** Numerous studies report adverse effects of pesticides on male reproductive health. The objectives of this study were to investigate whether there is a relationship between occupational exposure to pesticides and semen quality, and to determine whether chronic exposure to pesticides differentially affects semen quality in men of different ages. A comparative study of 64 farmers and 64 control men was performed. The farmers were interviewed to determine their occupational history and particularly, activities that may involve exposure to pesticides. Semen parameters were evaluated and a comparative analysis of semen variables between exposed and control groups, as well as between age groups: 18-29, 30-37 and 38-60 years was done. Significant alterations of some semen parameters in the exposed group were found, such as: decreases in sperm concentration, slow progressive motility and sperm membrane integrity; at the same time, increases in eosin Y positive and sperm DNA fragmentation index. The results obtained by age groups showed significant differences between exposed and control groups for the parameters of membrane integrity, eosin Y positive and sperm DNA fragmentation index, being the exposed group between 18-29 years that showed the highest altered cases of these parameters. Our results prove that occupational pesticide exposure is associated with alterations in sperm quality, creating a risk to farm workers in their reproductive capacity.

*Recibido: 15-05-2014 Aceptado: 12-02-2015*

## INTRODUCCIÓN

Mérida es una de las regiones agrícolas más productivas de Venezuela. La zona de Bailadores del Municipio Rivas Dávila tiene grandes extensiones de tierra dedicadas a

una diversidad de cultivos de hortalizas, tubérculos, frutas y flores, para lo cual se ha requerido la aplicación de plaguicidas en cantidades considerables. Según cifras oficiales, para 2010 la producción agroalimentaria del Municipio Rivas Dávila fue de

55.464 t, correspondiente al 7% de la producción del estado, y la producción de flores ornamentales fue 408.000 paquetes, correspondiente al 9% de la producción del estado (1, 2). Para el año 2002, el consumo de plaguicidas en el municipio se estimó en 36,5 t, según información extraoficial suministrada por el Ministerio de Producción y Comercio, estos fueron utilizados en una superficie cosechada de 1.295 ha para una producción de 40.100 t en el rubro agroalimentario. Aunque no se dispone de información actualizada, se estima que el consumo de plaguicidas para 2012 aumentó considerablemente debido al incremento en la superficie total cosechada y la introducción del rubro de plantas ornamentales (3). La aplicación excesiva de plaguicidas en la actividad agrícola ha traído como consecuencia la contaminación de las fuentes de agua en esta zona, tanto de aguas superficiales como de agua para consumo humano (4-7).

Durante las últimas décadas, las evidencias sobre el descenso en la calidad del semen humano son significativas a nivel mundial (8-11). Varios trabajos han señalado la asociación entre la exposición ambiental u ocupacional a diferentes clases de plaguicidas y la salud reproductiva del hombre, en particular, la calidad espermática (12-14). Por ejemplo, la exposición a organofosforados fue asociado con la reducción del volumen del semen y del contenido espermático en los agricultores fumigadores (15, 16). En Malaysia, los trabajadores agrícolas expuestos ocupacionalmente a malathion (organofosforado) y paraquat (bipiridilo) mostraron un descenso en la calidad espermática, con una disminución en la cantidad y motilidad espermática, y un alto porcentaje de teratozoospermia (17). La exposición ambiental a DDT (organoclorado) fue asociado con el deterioro de la calidad del semen de hombres jóvenes que viven en una región endémica de malaria en Sur África (18). Los efectos de la exposición ambiental

no-ocupacional a los insecticidas piretroides fueron asociados con un impacto negativo en la integridad del DNA espermático y descenso en la calidad del semen (19, 20).

La toxicidad de un gran número de plaguicidas y sus metabolitos se ha atribuido a su capacidad de disrupción endocrina; es decir, pueden actuar en el organismo interfiriendo con las hormonas endógenas, debido a su gran capacidad para enlazarse a los receptores de estrógenos y andrógenos, funcionando además como agonistas o antagonistas de estas hormonas (21-23). Es bien conocido que la espermatogénesis es regulada por el sistema endocrino, por lo cual la calidad del semen puede ser particularmente sensible a cualquier plaguicida o sus metabolitos, los cuales pueden imitar las hormonas masculinas o causar daño directo al aparato reproductor masculino (24).

En las últimas décadas se han incrementado los estudios en el hombre para evaluar los efectos de los plaguicidas sobre la calidad espermática, que es uno de los factores importantes relacionados con la infertilidad masculina (14, 25-27). La disminución en la concentración espermática fue el hallazgo más mencionado relacionado con la exposición a diferentes grupos de plaguicidas; también se ha observado una reducción en la cantidad total espermática, así como en la motilidad y la morfología normal de los espermatozoides. Adicionalmente, se ha reportado un incremento en la incidencia de anomalías en los espermatozoides, así como de malformaciones urogenitales y cáncer de la próstata y del testículo (28-31).

A pesar de los numerosos estudios que muestran efectos adversos de plaguicidas sobre la salud del hombre, existen poca información sobre los efectos de plaguicidas a largo plazo y la calidad espermática de los agricultores. Las investigaciones realizadas en comunidades agrícolas han enfatizado la necesidad de implementar programas edu-

cativos sobre el uso de agroquímicos con el propósito de reducir los riesgos de contaminación. Los objetivos del presente estudio fueron determinar si la exposición crónica a los plaguicidas altera los parámetros de la calidad espermática y si afecta diferencialmente la calidad del semen de los trabajadores agrícolas de diferentes edades.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Área de estudio

El Municipio Rivas Dávila conforma la zona alta del valle del Río Mocotíes, posee una altitud promedio de 1800 msnm y se ubica entre las coordenadas geográficas 8°09'29"-8°19'39" de latitud norte y 71°44'53"-71°54'38" de longitud oeste (32). El complejo hidrológico del Municipio Rivas Dávila está compuesto principalmente por el Río Mocotíes, que comprende un área de 189 km<sup>2</sup>, el cual se forma de la unión entre los Ríos Las Tapias y Zarzales, que también es conocido como Río Las Playitas (33). Es importante destacar, que muchas de las corrientes de aguas superficiales de la región son utilizadas actualmente para alimentar sistemas de riego agrícola y en algunos casos, también son utilizadas para el consumo humano.

### Población de estudio

Un estudio transversal fue realizado entre 2008 y 2010, basado en entrevistas a hombres participantes y recolección de muestras de semen de 64 agricultores expuestos ocupacionalmente a los efectos de plaguicidas (Grupo expuesto) y 64 hombres no expuestos (Grupo control). Se tomaron en cuenta como criterios de inclusión para los sujetos del grupo expuesto su historia de exposición a plaguicidas en forma directa y período de residencia en el Municipio Rivas Dávila, Estado Mérida, Venezuela, por lo menos dos años antes del estudio. La edad de los participantes de la investiga-

ción estuvo comprendida entre 18 y 55 años. Los sujetos del grupo control fueron incluidos en el estudio si nunca habían trabajado con plaguicidas y que no hubieran tenido contacto con plaguicidas, ocupacional y no ocupacionalmente; los controles fueron seleccionados al azar en la ciudad de Mérida, a 90 km de la región agrícola del Municipio Rivas Dávila. Se tomaron como criterios de exclusión todas aquellas patologías que afectarían la reproducción masculina (testiculares: orquitis, varicocele, criptorquidia, trauma escrotal; infección del tracto urogenital; enfermedades de transmisión sexual recientes).

Cada uno de los participantes firmó un consentimiento informado, de acuerdo con las normas internacionales establecidas en la Declaración de Helsinki para la protección de los sujetos de investigación, el cual fue aprobado por el Comité de Ética del Consejo de Desarrollo Científico, Humanístico, Tecnológico y de las Artes (CDCHTA) de la Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela. Los participantes fueron informados sobre la naturaleza del estudio, incluyendo los objetivos de la investigación, propósitos y metas. Se les elaboró una historia clínica, registrándose los datos demográficos de cada uno de ellos, sus antecedentes personales patológicos y no patológicos, antecedentes familiares y hábitos psicobiológicos, todo esto con el criterio de examen clínico integral.

### Análisis del semen

A todos los hombres participantes del estudio, se les pidió abstinencia sexual y alcohólica de 3 a 7 días antes de la recolección de la muestra de semen. El semen fue recolectado por masturbación siguiendo instrucciones especiales y según las Normas de la Organización Mundial de la Salud (OMS) (34). Las muestras de semen fueron analizadas en el sitio durante la primera hora para la observación macro y microscó-

pica, utilizando las técnicas normalizadas internacionales, de acuerdo al criterio de la OMS (34). Para el análisis macroscópico, se determinaron las características físicas, tales como: pH, volumen, licuefacción, aspecto y viscosidad. En el análisis microscópico, se evaluaron los parámetros del semen: vitalidad (Test de Eosina), motilidad, concentración, Test de Integridad de Membrana (TIM), morfología espermática, y citología para descartar leucocitospermia.

La integridad de la cromatina espermática fue evaluada mediante citometría de flujo utilizando el procedimiento para SCSA, basado en el método de Evenson y Jost (35) modificado por Cruz y col. (36). Debido a las propiedades metacromáticas del naranja de acridina, es posible distinguir entre la doble cadena DNA (ds) (fluorescencia verde) y la cadena sencilla DNA (ss) (fluorescencia roja) cuando se expone a 488 nm de luz láser a partir de un citómetro de flujo (FACSort, Cell Queso software, Becton Dickinson, San José, CA, USA). Los resultados del Índice de Fragmentación de DNA (IFD) fueron expresados en porcentaje y considerados normales cuando se encontraban por debajo de 30%.

De acuerdo a los criterios de la OMS (34), la calidad espermática debe ser evaluada por lo menos de dos muestras de semen, con intervalos de 15 días, promediando ambos resultados, para obtener una conclusión definitiva debido a una gran variabilidad biológica existente, aun dentro del mismo individuo. Tal criterio representa una limitación del presente estudio en relación con la obtención de muestra única por individuo *in situ*, por tratarse de un estudio de campo.

#### Análisis estadístico

Las variables continuas se expresaron como promedio  $\pm$  desviación estándar. Para establecer las diferencias entre las variables continuas, se utilizó el análisis de varianza

(ANOVA) para comparar grupos de edad. Se aplicó la prueba t de muestras independientes con nivel de significación de 0,05 para detectar diferencias entre las medias de dos poblaciones distribuidas normalmente. Se realizó la prueba de homogeneidad basada en el estadístico exacto de Fisher, con nivel de significación de 0,05, para comparar el porcentaje de pacientes con parámetros normales entre las dos poblaciones bajo estudio. Con el fin de determinar donde se encuentran esas diferencias, se realizó la prueba a posteriori de Tukey de comparaciones múltiples con nivel de significación de 0,05. Los análisis estadísticos se realizaron con SPSS versión 15 para Windows (SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

### RESULTADOS

Se estudiaron 64 hombres, todos trabajadores agrícolas del Municipio Rivas Dávila del Estado Mérida, Venezuela, quienes se encuentran expuestos ocupacionalmente a los efectos tóxicos de plaguicidas agroquímicos (grupo expuesto). La edad promedio del grupo expuesto fue de  $33,08 \pm 9,78$  años; sus edades se distribuyeron de la siguiente manera: 18-29 años, 42,2%; 30-37 años, 23,4%; y 38-60 años, 34,4%. Asimismo, igual número (64) de hombres se seleccionó al azar, del Municipio Libertador del Estado Mérida, Venezuela, que no estuvieran expuestos a plaguicidas (grupo control). La edad promedio del grupo control fue de  $33,97 \pm 7,50$  años, que se distribuyen por grupo de edad de la siguiente manera: 18-29 años, 29,7%; 30-37 años, 45,3%; y 38-60 años, 25,0%.

En la Tabla I se muestra el análisis comparativo de los parámetros de calidad del semen entre el grupo Expuesto y Control. Los resultados obtenidos señalan diferencias significativas en valores promedios de los siguientes parámetros: Concentración espermática ( $p=0,011$ ) (Expuestos =

**TABLA I**  
COMPARACIÓN DE LOS PARÁMETROS DE CALIDAD ESPERMÁTICA ENTRE LOS GRUPOS  
EXPUESTO Y CONTROL, MUNICIPIOS RIVAS DÁVILA Y LIBERTADOR, ESTADO MÉRIDA,  
VENEZUELA, 2008-2010

Variables	Grupo Expuesto Media ± DE	Grupo Control Media ± DE	Límites de Referencia <sup>†</sup>	P
pH	8,05 ± 0,63	7,97 ± 0,29	7,2-8,0	0,389
Concentración (millones/mL)	84,76 ± 34,32	100,81 ± 35,07	>20	0,011
Cantidad total (millones)	311,51 ± 189,13	298,50 ± 126,89	60-600	0,652
Eosina Y positivo (%)	31,97 ± 10,15	20,17 ± 5,29	< 20	0,000
Motilidad lenta progresiva (a+b, %)	48,20 ± 17,73	56,30 ± 13,11	≥ 40	0,005
Morfología normal (%)	51,71 ± 11,64	55,06 ± 11,96	≥ 15	0,112
Test de Integridad de Membrana (%)	52,34 ± 11,64	59,78 ± 12,70	≥ 58	0,001
Índice de Fragmentación de DNA (%)	37,02 ± 13,68	27,23 ± 5,68	< 30	0,000

DE=Desviación estándar. <sup>†</sup>OMS, 2010.

84,76 millones/mL vs Control=100,81 millones/mL; Eosina Y positivo (p=0,000) (Expuestos=31,97% vs Control=20,17%); Motilidad lenta progresiva (a+b) (p=0,005) (Expuestos=48,20% vs Control = 56,30%; TIM (p=0,001) (Expuestos=52,34% vs Control=59,78%; y, por último, IFD (p=0,000) (Expuestos=37,02% vs Control=27,23%.

De acuerdo a los valores de referencia de los parámetros de calidad espermática, se procedió a clasificarlos como normales o alterados. Se realizó la prueba de homogeneidad basada en el estadístico exacto de Fisher para comparar el porcentaje de pacientes con parámetros normales entre el grupo Expuesto y Control. Los resultados obtenidos muestran diferencias en los porcentajes de pacientes con valores normales para los siguientes parámetros de calidad espermática: Cantidad total (p=0,016), Eosina Y positivo (p=0,000), Motilidad lenta progresiva (p=0,013), TIM (p=0,000), e IFD (p=0,000). Para todos estos parámetros, el grupo control presentó mayor porcentaje de pacientes con valores normales que el grupo expuesto a plaguicidas (Tabla II).

Tomando en consideración los percentiles 33 y 66 de la edad, se agruparon los hombres en los grupos de edad 18-29, 30-37 y 38-60 años, para distribuir la muestra de manera homogénea; es decir, grupos de edades aproximadamente igual en tamaño de individuos; sobre estos grupos de edad se procedió a comparar los parámetros de calidad espermática en los grupos control y expuestos, empleando la prueba T de muestras independientes con nivel de significación de 0,05. Los resultados obtenidos por grupo de edad muestran diferencias significativas para los parámetros TIM, Eosina Y positivo e IFD (Tabla III).

Para el grupo de edad entre 18 a 29 años, se observaron diferencias significativas en los siguientes parámetros: TIM (p=0,000), Eosina Y positivo (p=0,000), e IFD (p=0,000), donde los integrantes del grupo expuesto presentaron promedios fuera de los límites de referencia establecidos; en contraste, el grupo control presentó promedios dentro de los valores referenciales.

Para los grupos de edad entre 30 a 37 años y 38 a 60 años, se observaron diferencias significativas en la Eosina Y positivo y el IFD. Para el grupo expuesto, los valores

**TABLA II**  
COMPARACIÓN DE VALORES NORMALES DE PARÁMETROS DE CALIDAD ESPERMÁTICA ENTRE LOS GRUPOS EXPUESTO Y CONTROL, MUNICIPIOS RIVAS DÁVILA Y LIBERTADOR, ESTADO MÉRIDA, VENEZUELA, 2008-2010

Variables		Grupo Expuesto N (%)	Grupo Control N (%)	P
pH	Normal	39 (60,94%)	33 (51,56%)	0,373
	Alterado	25 (39,06%)	31 (48,44%)	
Concentración (millones/mL)	Normal	61 (98,39%)	62 (96,88%)	1,000
	Alterado	1 (1,61%)	2 (3,12%)	
Cantidad total (millones)	Normal	53 (82,81%)	62 (96,88%)	0,016
	Alterado	11 (17,19%)	2 (3,12%)	
Eosina Y positivo (%)	Normal	3 (4,69%)	33 (51,56%)	0,000
	Alterado	61 (95,31%)	31 (48,44%)	
Motilidad lenta progresiva (a+b) %	Normal	43 (70,49%)	57 (89,06%)	0,013
	Alterado	18 (29,51)	7 (10,94%)	
Morfología normal (%)	Normal	63 (100%)	63 (98,44%)	1,000
	Alterado	0 (0%)	1 (1,56%)	
Test de Integridad de Membrana (%)	Normal	20 (31,25%)	48 (75,00%)	0,000
	Alterado	44 (68,75%)	16 (25,00%)	
Índice de Fragmentación de DNA (%)	Normal	15 (29,41%)	40 (65,57%)	0,000
	Alterado	36 (70,59%)	21 (34,43%)	

de Eosina Y positivo fueron de 31,87% (30 a 37 años) y 31,23% (38 a 60 años) y para el grupo control de 20,86% (30 a 37 años) y 21,63% (38 a 60 años). Los promedios del IFD para el grupo expuesto fue de 37,75% (30 a 37 años) y 35,82% (38 a 60 años), mientras que para el grupo control, de 27,12% (30 a 37 años) y 27,25% (38 a 60 años). En ambos parámetros los valores promedio encontrados fueron mayores en el grupo expuesto que en el grupo control (Tabla III).

Al comparar los valores normales de los parámetros de calidad espermática por grupo de edad (Tabla IV), en el grupo de edad entre 18 y 29 años se observaron diferencias significativas para los variables TIM ( $p=0,000$ ) y Eosina Y positivo ( $p=0,000$ ).

En el grupo control, el porcentaje de pacientes con valores normales se ubicó en 89,47% (TIM) y 68,42% (Eosina Y positivo), mientras que en el grupo expuesto fue de 33,33% (TIM) y 0,00% (Eosina Y positivo). No se observó diferencia estadística para el IFD; sin embargo, el porcentaje de pacientes con valores normales fue de 61,11% para el grupo control y 30,00% para el grupo expuesto, lo cual constituye una significancia clínica ya que el grupo control presenta 2,04 (61,11%/30,00%) veces más valores normales que el grupo expuesto.

Para el grupo de edad entre 30 y 37 años, se observó diferencia significativa en el parámetro Eosina Y positivo ( $p=0,021$ ), donde el 51,72% de los pacientes del grupo control presentaron valores normales, en

**TABLA III**  
COMPARACIÓN DE LOS PARÁMETROS DE CALIDAD ESPERMÁTICA ENTRE LOS GRUPOS  
EXPUESTO Y CONTROL SEGÚN EDAD, MUNICIPIOS RIVAS DÁVILA Y LIBERTADOR,  
ESTADO MÉRIDA, VENEZUELA, 2008-2010

Variables	Grupo Expuesto Media $\pm$ DE	Grupo Control Media $\pm$ DE	P
Edad 18-29 años			
Test de Integridad de Membrana (%)	53,0 (11,65)	65,79 (8,59)	0,000
Eosina Y positivo (%)	32,63 (11,32)	17,89 (3,54)	0,000
Índice de Fragmentación de DNA (%)	37,46 (14,57)	27,39 (6,83)	0,010
Edad 30-37 años			
Test de Integridad de Membrana (%)	58,27 (11,41)	59,45 (10,89)	0,739
Eosina Y positivo (%)	31,87 (10,25)	20,86 (6,28)	0,001
Índice de Fragmentación de DNA (%)	37,85 (17,62)	27,12 (4,81)	0,042
Edad 38-60 años			
Test de Integridad de Membrana (%)	47,5 (10,07)	53,25 (16,62)	0,231
Eosina Y positivo (%)	31,23 (8,9)	21,63 (4,4)	0,000
Índice de Fragmentación de DNA (%)	35,82 (8,81)	27,25 (6,01)	0,003

DE: Desviación Estándar

contraste al 13,33% del grupo expuesto. Por otra parte, en los parámetros TIM e IFD no se observaron diferencias significativas; no obstante, los resultados muestran una relevancia clínica dado que los porcentajes de pacientes normales del grupo control son 1,63 (75,86% / 46,67%) y 1,64 (70,37% / 42,86%) veces mayor, respectivamente, en comparación al grupo expuesto.

Con respecto al grupo de edad entre 38 y 60 años, se observaron diferencias significativas para el TIM ( $p=0,020$ ), Eosina Y positivo ( $p=0,026$ ) e IFD ( $p=0,013$ ). Los porcentajes de pacientes normales fueron para el TIM 56,25% (grupo control) y 18,18% (grupo expuesto), Eosina Y positivo 31,25% (grupo control) y 4,55% (grupo expuesto) e IFD 62,50% (grupo control) y 17,65% (grupo expuesto).

### DISCUSIÓN

En este estudio se han demostrado alteraciones significativas de algunos paráme-

tros de calidad del semen de agricultores ocupacionalmente expuestos a los efectos tóxicos de plaguicidas en sus labores diarios en una comunidad agrícola del estado Mérida, Venezuela. Los resultados de las entrevistas a los trabajadores agrícolas sugieren que ellos sufren una exposición crónica a los efectos adversos de plaguicidas debido a las pocas precauciones de seguridad tomadas en el manejo de los mismos, además la falta de políticas claras que permitan aplicar los controles y las leyes existentes, tanto a nivel nacional como internacional (37-41). Aunado a estos factores, la mayoría de ellos viven en las cercanías de los campos agrícolas, donde están expuestos constantemente a bajos niveles de plaguicidas asociados a la contaminación del agua, aire, suelo y de los productos de la siembra que consumen (4-7).

Los hallazgos de este estudio fueron consistentes con reportes de otros investigadores, que confirman el impacto de plaguicidas sobre la salud reproductiva del tra-



**TABLA IV**  
COMPARACIÓN DE VALORES NORMALES DE PARÁMETROS DE CALIDAD ESPERMÁTICA ENTRE LOS GRUPOS EXPUESTO Y CONTROL SEGÚN EDAD, MUNICIPIOS RIVAS DÁVILA Y LIBERTADOR, ESTADO MÉRIDA, VENEZUELA, AÑO 2008-2010

Variables		Grupo Expuesto N (%)	Grupo Control N (%)	P
Edad 18-29 años				
Test de Integridad de Membrana (%)	Normal	9 (33,33%)	17 (89,47%)	0,000
	Alterado	18 (66,67%)	2 (10,53%)	
Eosina Y positivo (%)	Normal	0 (0,00%)	13 (68,42%)	0,000
	Alterado	27 (100,00%)	6 (31,58%)	
Índice de Fragmentación de DNA (%)	Normal	6 (30,00%)	11 (61,11%)	0,095
	Alterado	14 (70,00%)	7 (38,89%)	
Edad 30-37 años				
Test de Integridad de Membrana (%)	Normal	7 (46,67%)	22 (75,86%)	0,092
	Alterado	8 (53,33%)	7 (24,14%)	
Eosina Y positivo (%)	Normal	2 (13,33%)	15 (51,72%)	0,021
	Alterado	13 (86,67%)	14 (48,28%)	
Índice de Fragmentación de DNA (%)	Normal	6 (42,86%)	19 (70,37%)	0,105
	Alterado	8 (57,14%)	8 (29,63%)	
Edad 38-60 años				
Test de Integridad de Membrana (%)	Normal	4 (18,18%)	9 (56,25%)	0,020
	Alterado	18 (81,82%)	7 (43,75%)	
Eosina Y positivo (%)	Normal	1 (4,55%)	5 (31,25%)	0,026
	Alterado	21 (95,45%)	11 (68,75%)	
Índice de Fragmentación de DNA (%)	Normal	3 (17,65%)	10 (62,50%)	0,013
	Alterado	14 (82,35%)	6 (37,50%)	

bajador agrícola. En las entrevistas a los participantes del estudio, los agricultores mencionaron el uso de diferentes clases de plaguicidas, tales como: fosfometilglicina, organoclorados, organofosforados, ditiocarbamatos, carbamatos, bupiridilos, triazinas y piretroides, entre otros, mostrando evidencia que los trabajadores fueron expuestos crónicamente a los efectos tóxicos de mezclas de plaguicidas. Los resultados del estudio demuestran alteraciones significativas de algunos parámetros del semen

del grupo expuesto, tales como: disminución de la concentración espermática ( $p=0,011$ ), aumento en el porcentaje de Eosina Y positivo ( $p=0,000$ ), decrecimiento de la motilidad espermática lenta progresiva ( $p=0,005$ ), disminución en el porcentaje del TIM ( $p=0,001$ ) y aumento en el IFD espermático ( $p=0,000$ ) (Tabla I). En el grupo expuesto se detectó mayor porcentaje de resultados alterados en comparación con el grupo control en los siguientes parámetros seminales: cantidad espermática, Eosina Y

positivo, motilidad lenta progresiva, TIM e IFD espermático (Tabla II). Aunque la mayoría de los grupos expuesto y control mostró niveles normales de cantidad y motilidad espermática, no obstante, entre ambos grupos se encontraron diferencias significativas en los casos alterados. Por otra parte, es importante notar que el 95% del grupo expuesto tenía un alto porcentaje de Eosina Y positivo, lo cual indica que la mayoría de los trabajadores agrícolas sufrían alteraciones en la vitalidad espermática. Con respecto al IFD espermático, el 71% del grupo expuesto se encontró con un nivel elevado de daños en la cromatina espermática. En el grupo control, las incidencias de los últimos dos parámetros de calidad seminal fueron de 48% y 34%, respectivamente, esto significa que los casos alterados de vitalidad e integridad de DNA espermático se duplicaron en el grupo expuesto. Estos resultados son consistentes con otros trabajos que reportaron una asociación entre parámetros anormales del semen y alteraciones en el DNA espermático (42, 43). La integridad de la cromatina espermática es central para la transmisión de la información genética durante la reproducción; la acumulación de sustancias xenobióticas tóxicas, como son los plaguicidas, puede causar problemas asociados con infertilidad masculino, baja probabilidad de embarazo y pérdidas fetales recurrentes (44-46).

Varios factores no-ocupacionales, tales como edad, fumar y consumo crónico de alcohol, se conocen que modifican las características del semen y se han asociado con baja calidad espermática y alteración de la integridad de DNA espermático (47-49). Estos factores pueden ejercer influencia sobre la calidad seminal, exacerbando los efectos de la exposición crónica a los plaguicidas. En el grupo expuesto, el 33% eran fumadores ocasionales y el 34%, consumidores de alcohol los fines de semana; por otra parte, en el grupo control, el 46,88% de los

participantes eran fumadores y el 54,69%, consumidores de alcohol ocasionales. En este estudio, se ha analizado la influencia del factor edad sobre la calidad del semen, sin embargo, cómo influyen los factores demográficos sobre los parámetros seminales, es un tema que se analizará en un artículo separado.

Algunos trabajos han determinado los límites de edad en hombres sanos para los cambios en los parámetros del semen, tales como: volumen del eyaculado, concentración espermática, motilidad espermática y morfología normal (50-52). Una relación inversa estadísticamente significativa fue observada entre el volumen seminal, la calidad espermática y la edad del paciente; los valores picos de los parámetros del semen fueron observados entre las edades  $\geq 30$  y  $< 35$  años, luego, comenzaron a reducirse a partir de los 55 años (50). En un estudio realizado con 998 hombres chinos sanos, entre 20 a 60 años, Zhu y col. (51) mostraron una correlación negativa de la edad del hombre con los parámetros espermáticos: motilidad progresiva, vitalidad y morfología normal. Los variables de motilidad rápida progresiva y morfología normal comienzan a decrecer lentamente a partir de los 30 años, mientras que la motilidad lenta progresiva, al principio de los 40 años. De acuerdo a Stone y col. (52), los niveles de los parámetros de eyaculados no cambian antes de los 34 años; después de esa edad, la cantidad total y la motilidad espermática comienzan a declinar. La concentración espermática y morfología espermática normal disminuyen después de los 40 años, mientras que la motilidad espermática y el volumen del eyaculado comienzan a decrecer a los 43 y 45 años, respectivamente.

En este trabajo se observó una disminución diferencial significativa entre los diferentes grupos etarios (18-29, 30-37 y 38-60 años) de dos parámetros de la calidad seminal: TIM y Eosina Y positivo, tanto en

el grupo expuesto así como en el grupo control (Tabla III). En el grupo control, los valores del TIM comienzan a disminuir por debajo de los criterios de normalidad de la OMS (34) después de los 38 años de edad, demostrando claramente la influencia del factor edad con el desmejoramiento de la calidad del semen. El TIM es una prueba que evalúa la integridad funcional de la membrana espermática y sirve como indicador de fertilidad potencial del espermatozoide (53). En los resultados del presente estudio, llama la atención que el grupo expuesto entre 18-29 años tenían los valores del TIM por debajo del rango de normalidad, semejante a lo encontrado en el grupo de edad entre 38-60 años (Tabla III). Los casos alterados del TIM en el grupo expuesto de 18-29 años alcanzaron el 66,67% en comparación con el grupo control, el cual registró sólo el 10,53% (Tabla IV). Es preocupante el uso inadecuado de plaguicidas por los agricultores, en particular los trabajadores jóvenes, debido a que se ponen en riesgo su fertilidad y la salud reproductiva en general.

Es de resaltar que en el grupo expuesto, los valores de Eosina Y positivo e IFD por grupo de edad se encuentran fuera del rango de normalidad por la OMS (34) y no muestran cambios relacionados con la edad (Tabla III). Sin embargo, en el grupo control se puede apreciar la influencia del factor edad sobre la vitalidad espermática con la disminución de los valores de Eosina Y positivo (Tabla III) y el aumento de los casos alterados (Tabla IV) con el incremento de edad, resultados que fueron consistentes con los obtenidos por Zhu y col. (51).

En el grupo expuesto, también se observó un incremento de los casos alterados del IFD espermático con la edad (Tabla IV). Similar al caso del TIM, un alto porcentaje (70%) de los trabajadores jóvenes, entre 18-29 años, mostró un nivel elevado de daños en el DNA espermático, colocándolos

en mayor riesgo de sub-fertilidad a temprana edad. Los resultados del presente estudio son consistentes con la literatura previa (19, 36, 43, 47), demostrando una asociación entre parámetros seminales anormales e incremento en los daños en el DNA espermático.

En conclusión, los resultados de este estudio comprueban la existencia de riesgos para la salud reproductiva de los trabajadores agrícolas crónicamente expuestos a plaguicidas, ya que la exposición ocupacional a estas sustancias tóxicas puede estar asociada con alteraciones en la calidad del semen. De allí que se recomienda la implementación de programas de formación para el uso más seguro y eficaz de los agroquímicos, que se podrían complementar con el biomonitoreo preventivo de los trabajadores para reducir los riesgos de exposición a plaguicidas y sus efectos adversos sobre la salud reproductiva del hombre.

#### AGRADECIMIENTOS

Esta investigación fue financiada por el Fondo Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación (FONACIT) a través del Proyecto S1-2002000281 y del Consejo de Desarrollo Científico, Humanístico, Tecnológico y Artes (CDCHTA) de la Universidad de Los Andes con el Proyecto M-912-07-07-C.

#### REFERENCIAS

1. **Corporación de Los Andes.** Dossier estatal 2010, Mérida, Mérida: Corporación de Los Andes, Vicepresidencia de la República Bolivariana de Venezuela, 2010a. [www.corpoandes.gov.ve].
2. **Corporación de Los Andes.** Dossier municipal 2010, Rivas Dávila, Mérida: Corporación de Los Andes, Vicepresidencia de la República Bolivariana de Venezuela, 2010b. [www.corpoandes.gov.ve].
3. **Corporación de Los Andes.** Dossier municipal 2012, Rivas Dávila, Mérida: Corporación de Los Andes, Vicepresidencia de la República Bolivariana de Venezuela, 2012.

- ción de Los Andes, Vicepresidencia de la República Bolivariana de Venezuela, 2012. [www.corpoandes.gov.ve].
4. **Flores-García M, Molina-Morales Y, Balza-Quintero A, Benítez-Díaz P, Miranda-Contreras L.** Residuos de plaguicidas en aguas para consumo humano en una comunidad agrícola del estado Mérida, Venezuela. *Invest Clin* 2011; 52(4): 295-311.
  5. **Uzcátegui J, Araujo Y, Mendoza L.** Residuos de plaguicidas organoclorados y su relación con parámetros físico-químicos en suelos del municipio Pueblo Llano, estado Mérida. *Bioagro* 2011; 23: 115-120.
  6. **Molina-Morales Y, Flores-García M, Balza-Quintero A, Benítez-Díaz P, Miranda-Contreras L.** Niveles de plaguicidas en aguas superficiales de una región agrícola del estado Mérida, Venezuela, entre 2008 y 2010. *Rev Int Contam Ambie* 2012; 28: 289-301.
  7. **Benítez-Díaz P, Miranda-Contreras L.** Contaminación de aguas superficiales por residuos de plaguicidas en Venezuela y otros países de Latinoamérica. *Rev Int Contam Ambie* 2013; 29: 7-23.
  8. **Jørgensen N, Nordstrøm Joensen U, Kold Jensen T, Blomberg Jensen M, Almstrup K, Ahlmann Olesen I, Juul A, Andersson AM, Carlsen E, Holm Petersen J, Toppari J, Skakkebaek NE.** Human semen quality in the new millennium: a prospective cross sectional population-based study of 4867 men. *BMJ Open* 2012; 2:e000990.
  9. **Geoffroy-Siraudin C, Loundou AD, Romain F, Achard V, Courbière B, Perrard MH, Durand P, Guichaoua MR.** Decline of semen quality among 10,932 males consulting for couple infertility over a 20-year period in Marseille, France. *Asian J Androl* 2012; 14(4): 584-590.
  10. **Dama MS, Rajender S.** Secular changes in the semen quality in India during the past 33 years. *J Androl* 2012; 33(4): 740-744.
  11. **Jiang M, Chen X, Yue H, Xu W, Lin L, Wu Y, Liu B.** Semen quality evaluation in a cohort of 28,213 adult males from Sichuan area of south-west China. *Andrologia* 2013 Sep 30. doi: 10.1111/and.12168. [Epub ahead of print].
  12. **Perry MJ.** Effects of environmental and occupational pesticide exposure on human sperm: a systematic review. *Hum Reprod Update* 2008; 14(3): 233-242.
  13. **Martenies SE, Perry MJ.** Environmental and occupational pesticide exposure and human sperm parameters: A systematic review. *Toxicology* 2013; 307: 66-73.
  14. **Mehrpour O, Karrari P, Zamani N, Tsatsakis AM, Abdollahi M.** Occupational exposure to pesticides and consequences on male semen and fertility: A review. *Toxicol Lett* 2014; S0378-4274(14): 00040-X.
  15. **Recio-Vega R, Ocampo-Gómez G, Borja-Aburto VH, Moran-Martínez J, Cebrian-García ME.** Organophosphorus pesticide exposure decreases sperm quality: association between sperm parameters and urinary pesticide levels. *J Applied Toxicol* 2008; 28: 674-680.
  16. **Yucra S, Gasco M, Rubio J, Gonzales GF.** Semen quality in Peruvian pesticide applicators: association between urinary organophosphate metabolites and semen parameters. *Env Health* 2008; 7: 59-69.
  17. **Hossain F, Ali O, D'Souza UJA, Naing DKS.** Effects of pesticide use on semen quality among farmers in rural areas of Sabah, Malaysia. *J Occup Health* 2010; 52: 353-360.
  18. **Aneck-Hahn NH, Schulenburg GW, Bornman MS, Farias P, De Jager C.** Impaired semen quality associated with environmental DDT exposure in young men living in a malaria area in the Limpopo province, South Africa. *J Androl* 2007; 28(3): 423-434.
  19. **Meeker JD, Barr DB, Hauser R.** Human semen quality and sperm DNA damage in relation to urinary metabolites of pyrethroid insecticides. *Hum Reprod* 2008; 23(8): 1932-1940.
  20. **Ji G, Xia Y, Gu A, Shi X, Long Y, Song I, Wang S, Wang X.** Effects of non-occupational environmental exposure to pyrethroids on semen quality and sperm DNA integrity in Chinese men. *Reprod Toxicol* 2011; 31:171-176.
  21. **Frye C, Bo E, Calamandreis G, Calsa L, Dessi-Fulgheri F, Fernández M, Fusani L,**

- Kahss O, Kajta M, Le Pagess Y, Patisaul HB, Venerosi A, Wojtowicz AK, Panzica GC. Endocrine disrupters: A review of some sources, effects, and mechanisms of actions on behavior and neuroendocrine system. *J Neuroendocrinol* 2011; 24: 144-159.
22. Mnif W, Hadj Hassine AI, Bouaziz A, Bartegi A, Thomas O, Roig B. Effects of endocrine disruptor pesticides: A review. *Int J Environ Res Pub Health* 2011; 8: 2265-2303.
23. UNEP y WHO. State of the science of endocrine disrupting chemicals 2012 / edited by Åke Bergman, Jerrold J. Heindel, Susan Jobling, Karen A. Kidd and R. Thomas Zoeller. United Nations Environment Programme and the World Health Organization, 2013, pp 289.
24. Svechnikov K, Izzo G, Landreh L, Weisser J, Söder O. Endocrine disruptors and Leydig cell function. *J Biomed Biotechnol* 2010; 2010: Article ID 684504.
25. De Jäger C, Farias P, Barraza-Villarreal A, Hernandez Avila M, Ayotte P, Dewailly E, Dombrowski C, Ois Rousseau F, Diaz Sanchez V, Bailey JL. Reduced seminal parameters breakthroughs in andrology associated with environmental DDT exposure and p,p'-DDE concentrations in men in Chiapas, Mexico: a cross-sectional study. *J Androl* 2006; 27 (1):16-27.
26. Perry MJ, Venners SA, Chen X, Liu X, Tang G, Xing H, Barr DB, Xu X. Organophosphorous pesticide exposures and sperm quality. *Reprod Toxicol* 2011; 31(1): 75-79.
27. Contreras HR, Badilla J, Bustos-Obregón E. Morphofunctional disturbances of human sperm after incubation with organophosphate pesticides. *Biocell* 1999; 23(2): 135-141.
28. Skakkebaek NE, Rajpert-De Meyts, Main KM. Testicular dysgenesis syndrome: an increasingly common development disorder with environmental aspects. *Hum Reprod* 2001; 16: 972-978.
29. Biggs ML, Davis MD, Eaton DL, Weiss NS, Barr DB, Doody DR, Fish S, Needham LL, Chen C, Schwartz SM. Serum organochlorine pesticide residues and risk of testicular germ cell carcinoma: A population-based case-control study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2008; 17(8): 2012-2018.
30. Ndong JR, Blanchet P, Multigner L. Pesticides and prostate cancer: epidemiological data. *Bull Cancer* 2009; 96: 171-180.
31. Giannandrea F. Long-term pesticide exposure and the risk of testicular cancer. *Occup Med (Lond)* 2012; 62(4): 309-310.
32. CORPOANDES. Dossier Municipal 2009. Corporación de Los Andes - Ministerio del Popular. [[http://www.corpoandes.gov.ve/files/imagenes/file/descargas/gerencia\\_informacion/DOSSIER%202009/Merida/Rivas%20Davila%202009.pdf](http://www.corpoandes.gov.ve/files/imagenes/file/descargas/gerencia_informacion/DOSSIER%202009/Merida/Rivas%20Davila%202009.pdf)]
33. Silva G. Análisis hidrográfico e hipsométrico de la cuenca alta y media del río Chama, estado Mérida, Venezuela. *Rev Geogr Venez* 1999; 40: 9-41.
34. World Health Organization, Department of Reproductive Health and Research. WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen, Fifth edition, 2010, pp 287.
35. Evenson D, Jost L. Sperm chromatin structure assay: DNA denaturability. *Methods Cell Biol*, 1994; 42 Pt B: 159-176.
36. Cruz I, Colmenares M, Berrueta-Carrillo L, Gómez-Pérez R, Montes H, Berrueta L, Salmen S, Osuna JA. Evaluación de la calidad de espermatozoide humano: comparación entre la integridad del DNA espermático y variables del semen. *Invest Clin* 2010; 51: 87-99.
37. Gaceta Oficial de la República de Venezuela Número 5.021, Año CXXXIII-Mes III. Decreto 883, 1995; pp 1-4.
38. Gaceta Oficial de la República de Venezuela Número 36.395, Año CXXXV-Mes V, 1998; pp 1-4.
39. Fielding, M. Pesticides in groundwater. Final report to European Crop Protection Association. Medmenham Water Research Centre, 1998.
40. Organización Mundial de la Salud. Guías para la calidad del agua potable. 3era Ed. Ginebra (Suiza): Publicaciones de la Organización Mundial de la Salud, 2004. Resumen disponible en: <http://www.cepis.org.pe/busacg/e/guiasoms3corr.pdf>

41. **SAICM.** Strategic Approach to International Chemicals Management. Ginebra-Suiza: SAICM, PNUMA, Organización Mundial de la Salud, 2007.
42. **Sakkas D, Alvarez JG.** Sperm DNA fragmentation: mechanisms of origin, impact on reproductive outcome, and analysis. *Fertil Steril* 2010; 93: 1027-1036.
43. **Varghese AC, Bragais FM, Mukhopadhyay D, Kundu S, Pal M, Bhattacharyya AK, Agarwal A.** Human sperm DNA integrity in normal and abnormal semen samples and its correlation with sperm characteristics. *Andrologia* 2009; 41: 207-215.
44. **Fei Q, Huang H, Jin J, Huang X.** Diagnostic value of sperm DNA fragmentation for male infertility. *Zhonghua Yi Xue Yi Chuan Xue Za Zhi* 2014; 31(1): 60-64.
45. **Das M, Al-Hathal N, San-Gabriel M, Phillips S, Kadoch IJ, Bissonnette F, Holzer H, Zini A.** High prevalence of isolated sperm DNA damage in infertile men with advanced paternal age. *J Assist Reprod Genet* 2013; 30(6): 843-848.
46. **Venkatesh S, Singh A, Shamsi MB, Thilagavathi J, Kumar R, Mitra DK, Dada R.** Clinical significance of sperm DNA damage threshold value in the assessment of male infertility. *Reprod Sci* 2011; 18(10): 1005-1013.
47. **Varshini J, Srinag BS, Kalthur G, Krishnamurthy H, Kumar P, Rao SB-S, Adiga SK.** Poor sperm quality and advanced age are associated with increased sperm DNA damage in infertile men. *Andrologia* 2012; 44: 642-649.
48. **Taha EA, Ez-Aldin AM, Sayed SK, Ghandour NM, Mostafa T.** Effect of smoking on sperm vitality, DNA integrity, seminal oxidative stress, zinc in fertile men. *Urology* 2012; 80(4): 822-825.
49. **Anifandis G, Bounartzi T, Messini CI, Dafopoulos K, Sotiriou S, Messinis IE.** The impact of cigarette smoking and alcohol consumption on sperm parameters and sperm DNA fragmentation (SDF) measured by Halosperm(®). *Arch Gynecol Obstet* 2014; 290(4): 777-782.
50. **Levitas E, Lunenfeld E, Weisz N, Friger M, Potashnik G.** Relationship between age and semen parameters in men with normal sperm concentration: analysis of 6022 semen samples. *Andrologia* 2007; 39: 45-50.
51. **Zhu QX, Meads C, Lu ML, Wu JQ, Zhou WJ, Gao ES.** Turning point of age for semen quality: a population-based study in Chinese men. *Fertil Steril* 2011; 96(3): 572-576.
52. **Stone BA, Alex A, Werlin LB, Marrs RP.** Age thresholds for changes in semen parameters in men. *Fertil Steril* 2013; 100(4): 952-958.
53. **Ramu S, Jeyendran RS.** The hypo-osmotic swelling test for evaluation of sperm membrane integrity. *Methods Mol Biol* 2013; 927: 21-25.